نشریه پژوهش‌های زراعی ایران
جلد ۱۷، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸، ص. ۳۴۵-۳۲۷
Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 17, No. 2, Summer. 2019, p. 327-345

ارزیابی صفات کمی و کیفی نعناع‌فلفلی (*Mentha piperita* L.) در چین‌های اول و دوم تحت تأثیر کاربرد تلفیقی کودهای شیمیایی، نانو و مایکوریزا

علی استادی[1]، عبدالله جوانمرد[2]*، محمدرضا مرشدلو[3]، سارا ملاعلی عباسیان[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۱۲

چکیده

به‌منظور بررسی اثر کودهای مختلف بر ویژگی‌های کمی و کیفی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، آزمایشی به‌صورت اسپلیت پلات در زمان بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی با هفت تیمار و سه تکرار و در دو چین در دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در سال زراعی ۱۳۹۶ اجرا شد. عامل اصلی تیمارهای مختلف کودی شامل ۱۰۰ درصد کود شیمیایی NPK، قارچ مایکوریزا (*Glomus mosseae*)، قارچ مایکوریزا+۵۰ درصد کود شیمیایی، نانو کود (ماکرو+ میکرو)، ۵۰ درصد نانو کود+۵۰ درصد کود شیمیایی و نانو کود+ مایکوریزا و عدم مصرف کود (شاهد) و عامل فرعی زمان برداشت (چین اول و دوم) بودند. صفات مورد مطالعه شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌ی جانبی در بوته، شاخص کلروفیل، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن کل ماده خشک، درصد اسانس، عملکرد اسانس و صفات کیفی اسانس بودند. نتایج نشان دادند که صفات ارتفاع بوته، شاخص کلروفیل، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن کل ماده خشک و درصد اسانس تحت تأثیر معنی‌دار اثر متقابل نوع کود و چین در سطح احتمال یک درصد قرار گرفتند. علاوه بر این، اثر تیمارهای مختلف کوددهی و چین بر تعداد شاخه‌ی جانبی و عملکرد اسانس به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار بودند. بیشترین عملکرد کل ماده خشک (۳۸۲/۶ گرم در مترمربع) به تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی و به‌دنبال آن در تیمارهای ۵۰ درصد کود شیمیایی+ مایکوریزا و ۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانو کود در چین دوم به‌دست آمد. از سوی دیگر، بیشترین (۶/۱ گرم در مترمربع) و کمترین (۲/۹ گرم در متر مربع) عملکرد اسانس نیز به‌ترتیب در تیمارهای ۵۰ درصد کود شیمیایی+ مایکوریزا و شاهد به‌دست آمد. تجزیه شیمیایی اسانس نشان داد که در تمامی تیمارها منتول، منتون، ۱،۸ سینئول، نئو ایزومنتول، نئو منتول، منتوفوران و پی-منس-یک-این-۹- اُل جزء ترکیب‌های غالب اسانس بودند. بیشترین میزان منتول در تیمار نانو کود و در چین دوم به‌دست آمد. علاوه‌براین، در هر دو چین مونوترپن‌های هیدروکربنه جزء اصلی اسانس بودند. به‌طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که کاربرد تلفیقی ۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانو کود و ۵۰ درصد کود شیمیایی+ قارچ مایکوریزا می‌تواند در بهبود کمیت و کیفیت اسانس نعناع فلفلی و کاهش کودهای شیمیایی موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: چین، کاربرد تلفیقی کود، کشاورزی پایدار، منتول، منتون

مقدمه

امروزه، بر کشت گیاهان دارویی به جهت افزایش تنوع اکوسیستم‌های زراعی که نقش مهمی در کشاورزی پایدار ایفا می‌کنند، تمرکز بیشتری شده است. این گیاهان در سراسر جهان از زمان‌های قدیم به علت اثرات مفید بر سلامت انسان مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Urcoviche *et al*., 2015). نعناع‌فلفلی (*Mentha piperita* L.) یک گیاه چندساله دارویی متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است که مقدار مصرف سالانه‌ی اسانس آن در جهان به حدود ۷۰۰۰ تن می‌رسد. نعناع فلفلی یک گیاه هیبرید بین گونه‌ای است که والدین آن را *Mentha aquatic* و *Mentha spicata* ذکر کرده‌اند. طعم تند برگ‌های آن سبب معروفیت این گیاه به نام نعناع فلفلی شده است (Peter, 2006).

قوانین مربوط به تنوع زیستی که در سال‌های ۲۰۰۲ و ۲۰۰۴ برای محافظت از تنوع زیستی به‌ویژه تنوع گیاهان دارویی وضع شد، به‌منظور برآورده کردن تقاضای جهانی داروهای گیاهی با منشأ طبیعی، تولیدکنندگان را به کشت گیاهان دارویی الزام کرد (Smitha *et al*., 2019). امروزه جهت افزایش عملکرد در سیستم‌های کشاورزی مرسوم از کودهای شیمیایی به‌صورت فشرده استفاده می‌شود (Tarraf *et al*., 2017). به طوری که میزان مصرف کودهای NPK در سال ۲۰۱۰ و ۲۰۱۱ به‌ترتیب ۱۷۰/۷ و ۱۷۵/۷ میلیون تن بوده که در سال ۲۰۵۰، مصرف کودهای نیتروژنه، فسفره و پتاسیمی به‌ترتیب ۱۷۲، ۱۷۵ و ۱۵۰ درصد افزایش خواهد یافت (Khan *et al*., 2018). از طرفی تخمین زده شده که حدود ۷۰-۴۰ درصد

۱- دانشجوی دکتری اگروتکنولوژی- اکولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه
۲- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه
۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه
۴- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه
(*- نویسنده مسئول: Email:a.javanmard@maragheh.ac.ir)
DOI: 10.22067/gsc.v17i2.75005

نیتروژن، ۹۰-۸۰ درصد فسفر و ۹۰-۵۰ درصد پتاسیم مصرفی در محیط تلف شده و در دسترس گیاه قرار نمی‌گیرند (Solanki *et al*., 2015). بنابراین با توجه به کارآیی پایین کودهای شیمیایی و مشکلات زیست‌محیطی ناشی از کاربرد بیش از حد آن‌ها و به‌منظور اطمینان از پایداری آگرواکوسیستم‌ها ضروری است استفاده از کودهای طبیعی با بنیان آلی و با کارآیی بالا توسعه پیدا کنند (Razavi *et al*., 2017). نانو کودها موادی با اندازه ۱۰۰-۱ نانومتر تعریف می‌شوند که به‌راحتی جذب گیاه می‌شوند. از مزایای آن‌ها می‌توان به افزایش راندمان و کیفیت منابع غذایی، جذب کامل کود توسط گیاه، کاهش آلودگی خاک و محصولات غذایی به واسطه کاهش آبشویی، کاهش فشردگی خاک، کاهش مسمومیت گیاهی و تنش ناشی از غلظت‌های بالای موضعی نمک در خاک و افزایش عملکرد به‌واسطه وضعیت تغذیه‌ای مطلوب گیاه اشاره نمود (Liu and Lal, 2015). در پژوهشی اثر محلول‌پاشی نانو کودهای آهن در ریحان مقدس (*Ocimum sanctum*) بر صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع گیاه، تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد برگ، سطح برگ و وزن تر و خشک (برگ، ساقه و اندام هوایی) و همچنین بر میزان اسانس معنی‌دار شد به طوری که بیشترین و کمترین مقدار صفات مذکور به‌ترتیب در تیمارهای محلول‌پاشی ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن و شاهد مشاهده شد (Moghadam *et al*., 2015). در آزمایشی دیگر مشاهده شد که ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک پیکره رویشی، درصد اسانس و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس بالنگو (*Lallemantia iberica*)، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نانوکود و کود زیستی قرار گرفتند. بیشترین ارتفاع گیاه بالنگو (۳۵ سانتی‌متر) با کاربرد کود شیمیایی، بیشترین وزن تر و خشک پیکره رویشی در تیمار هم‌زمان نانو کود و نیتروکسین (به‌ترتیب ۳۶/۰۵ و ۵/۰۹ گرم) و بیشترین درصد اسانس با کاربرد هم‌زمان نانوکود و بیوفسفات به میزان ۰/۵۷ درصد حاصل شد (Mafakheri *et al*., 2015). همچنین، خاتر (Khater, 2015) اثر محلول‌پاشی نانو ذرات مگنتیت بر رشد و ترکیب اسانس نعناع فلفلی را مطالعه کرد. نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد نانو ذرات مگنتیت رشد و اسانس گیاه نعناع‌فلفلی را به‌طور قابل توجهی افزایش داد. به‌طوری که در غلظت ۱۵ میلی‌گرم در لیتر بیشترین درصد اسانس و عملکرد گیاه به‌دست آمد، علاوه بر این بیشترین میزان منتون و منتول نیز با محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌لیتر نانو ذرات مگنتیت حاصل شد.

قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار[1]، یکی از عوامل بیولوژیک خاک‌های زراعی می‌باشند که به دلیل افزایش سطح مؤثر ریشه و به دنبال آن سطح جذب و توانایی افزایش جذب فسفر از منابع غیرمتحرک به‌واسطه فعالیت آنزیم فسفاتاز و ترکیبات آلی حل‌کننده فسفات نامحلول، موجب استفاده تجاری از این قارچ‌ها به‌عنوان کودهای زیستی شده است (Willmann *et al*., 2013). مطالعات متعددی در رابطه با هم‌زیستی قارچ مایکوریزا با گیاهان دارویی و معطری مانند ریحان (*Ocimum basilicum*)، مرزنجوش (*Origanum onites*)، نعناع‌فلفلی (*Mentha piperita*)، شوید (*Anethum graveolens*)، رازیانه (*Foeniculum vulgare*)، گشنیز (*Coriandrum sativum*)، اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*)، شمعدانی معطر (*Pelargonium peltatum*) و مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) وجود دارد (Karagiannidis *et al*., 2011). در آزمایش کاراجیانیدیز و همکاران (Karagiannidis *et al*., 2011) مشخص شد که گونه‌ای نعناع (*Mentha requienii* L.) و مرزنجوش (*Origanum onites* L.) که با قارچ مایکوریزا تلقیح شده بودند محتوای بالاتری از اسانس و عناصر غذایی را دارا بودند و رشد بهتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده داشتند علاوه بر این ترکیب اسانس در گیاهان تلقیح شده با اسانس گیاهان تلقیح نشده متفاوت بود. همچنین یورکوویچ و همکاران (Urcoviche *et al*., 2015)، با کاربرد دو گونه قارچ مایکوریزا روی گیاه نعناع برگ موجی (*Mentha crispa*) گزارش کردند گیاهانی که با قارچ *Glomus etunicatum* تلقیح شده بودند بیشترین محتوای اسانس (۰/۹۸درصد) در شرایط مقدار اندک فسفر خاک را داشتند. با این حال وقتی که فسفر به خاک اضافه شد محتوای اسانس به ۰/۰۹ درصد کاهش یافت. در پژوهشی اثر دو گونه قارچ مایکوریزا (*Glomus macrocarpum* و *Glomus fasciculatum*) بر روی غلظت آرتیمیزینین در گیاه درمنه یکساله (*Artemisia annua* L.) مورد آزمایش قرار گرفت، نتایج نشان داد که این دو قارچ به‌طور معنی‌داری غلظت آرتیمیزینین را افزایش دادند (Kapoor *et al*., 2007). همچنین همزیستی با قارچ مایکوریزا به‌طور معنی‌داری نه تنها باعث افزایش محتوای اسانس شد بلکه باعث افزایش ماده فعال مهم آنتول در رازیانه (*Foeniculum vulgare*) نیز شد (Kapoor *et al*., 2004). ژیلجازکوو و همکاران (Zheljazkov *et al*., 2009) با بررسی اثر کود شیمیایی نیتروژنه بر نعناع فلفلی گزارش کردند که با مصرف ۸۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن، عملکرد و ترکیب اسانس نسبت به شاهد تحت تأثیر قرار نگرفت. در حالی‌که کورت و همکاران (Court *et al*., 1993) نتیجه گرفتند که عملکرد ماده خشک و درصد اسانس نعناع‌فلفلی با افزایش میزان مصرف نیتروژن افزایش یافت. همچنین ترکیب‌های نئومنتول، منتیل استات، لینالول، پولگون، آلفا-ترپینن و بتا کاریوفیلن با افزایش میزان کود نیتروژنه کاهش ولی ترکیب‌هایی همانند ایزومنتون و منتون با افزایش مصرف کود افزایش یافتند. در حالی که مقدار منتول به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر افزایش مصرف کود نیتروژن قرار نگرفت. در پژوهشی اثر محلول‌پاشی عناصر NPK به همراه اسید سالیسیلیک بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه آویشن (*Thymus*

1- Arbuscular Mycorrhizal Fungi

vulgaris L.) مورد آزمایش قرار گرفت، نتایج نشان داد که محتوای اسانس و غلظت تیمول، گاما ترپینن و پی-سیمن با محلول‌پاشی عناصر NPK به همراه اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد افزایش یافت (Pavela *et al*., 2018).

اخیراً تولید گیاهان دارویی براساس قوانین روش‌های کشاورزی سودمند[1] صورت می‌گیرد. بر اساس این قوانین در کشت و کار گیاهان دارویی لازم است مصرف کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها به حداقل برسد. بنابراین، با توجه به استفاده روزافزون از گیاهان دارویی و نقش این گیاهان در اقتصاد کشور، این پژوهش با هدف بررسی اثر نانوکودها، قارچ مایکوریزا و کودهای شیمیایی به‌صورت جداگانه و ترکیبی بر درصد و عملکرد اسانس و ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس نعناع‌فلفلی در شرایط آب و هوایی مراغه اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۶ در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه با طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۱۶ دقیقه شرقی و عرض ۳۷ درجه و ۲۳ دقیقه شمالی با ارتفاع ۱۴۸۵ متر از سطح دریا به‌صورت اسپلیت پلات در زمان بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی با هفت تیمار و سه تکرار و در دو چین اجرا شد. عامل کرت اصلی انواع مختلف کود شامل عدم مصرف کود (شاهد)، ۱۰۰ درصد کود شیمیایی (۲۰۰ و ۱۳۵ کیلوگرم در هکتار به‌ترتیب اوره و سوپرفسفات تریپل)، کاربرد قارچ مایکوریزا، قارچ مایکوریزا+۵۰ درصد کود شیمیایی، نانو کود ماکرو (نیتروژن، فسفر و پتاسیم)+ میکرو (آهن، روی و منگنز)، ۵۰ درصد نانو کود (ماکرو+میکرو)+ ۵۰ درصد کود شیمیایی، نانو کود+ قارچ مایکوریزا و عامل فرعی زمان برداشت (چین اول و دوم) بودند. قبل از اجرای آزمایش یک نمونه خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری جهت تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن انتخاب و مورد تجزیه قرار گرفت (جدول ۱).

کود سوپرفسفات تریپل قبل از کاشت و کود اوره در سه نوبت (هم‌زمان با کاشت، قبل از مرحله گلدهی در چین اول و بعد از برداشت چین اول) استفاده شدند (Telici *et al*., 2011). نانو کودهای مورد استفاده با استفاده از روش مکانیکی توسط شرکت تولیدکننده این کودها (شرکت فن آور سپهر پارمیس) ساخته شده و مواد نانویی نیز اضافه نشده است. این روش، از جمله روش‌های تولید نانو مواد با رویکرد بالا به پایین است (Mishra *et al*., 2018). نانو کودهای نیتروژن (Chelate N 25%) و روی (Chelate Zn 20%) با غلظت دو در هزار مصرف شدند. همچنین نانو کودهای فسفر (Chelate P 18%)، پتاسیم (Chelate K 35%) و آهن (Chelate Fe 13%) با غلظت یک کیلوگرم در هزار لیتر آب و نانو کود منگنز (Chelate Mn 18%) با غلظت ۵۰۰ گرم در هزار لیتر مورد استفاده قرار گرفتند. لازم به ذکر است که نانو کودها در دو مرحله رشدی (یک ماه بعد از کشت و یک ماه بعد از برداشت چین اول) محلول‌پاشی شدند.

هر کرت شامل پنج خط کاشت به طول سه متر بود و نشاءها با فواصل بین ردیف ۴۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۲۵ سانتی‌متر کشت شدند. قارچ مایکوریزا (*Glomus mosseae*) مورد استفاده در این تحقیق از کلینیک گیاه‌پزشکی اسدآباد همدان تهیه شد. قبل از کاشت از خاکی که حاوی هیف‌های قارچ مایکوریزا، بقایای ریشه و اسپور (حدود ۱۰۰۰ اسپور در هر ۱۰ گرم خاک) بود، در داخل خطوط کاشت و زیر نشاءها به مقدار ۸۰ گرم در هر ردیف کاشت استفاده شد. ریزوم‌ها در اواسط اردیبهشت ماه با تراکم ۱۰ بوته در متر مربع در عمق ۱۰ سانتی‌متری خاک با دست کشت شدند (Peter, 2006). اولین نوبت آبیاری اول بلافاصله بعد از کاشت به‌صورت قطره‌ای و در مراحل بعدی هر ۱۰-۷ روز صورت گرفت (Marcum and Hanson, 2006; Telici *et al*., 2011). همچنین مبارزه با علف‌های هرز در اوایل دوره رشد به‌صورت دستی صورت پذیرفت. شاخص کلروفیل در آغاز گلدهی توسط دستگاه کلروفیل‌متر[2] مدل Spad 502 Plus ساخت کشور ژاپن، از آخرین برگ کاملاً توسعه‌یافته در پنج بوته اندازه‌گیری شد. در نهایت بعد از حذف اثرات حاشیه، برداشت در هر دو چین از خطوط وسط در مساحتی معادل ۲ مترمربع در ۵۰ درصد گلدهی صورت گرفت. برداشت چین اول در نیمه اول مرداد و چین دوم در نیمه دوم مهرماه انجام پذیرفت. بعد از برداشت، ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی، شاخص کلروفیل، وزن خشک برگ‌ها، وزن خشک ساقه‌ها، وزن کل ماده خشک، درصد و عملکرد اسانس اندازه‌گیری شد. جهت تعیین وزن خشک، نمونه‌های برداشت شده از هر کرت را در سایه تا ثابت شدن وزن نگهداری شدند. جهت استخراج اسانس از دستگاه کلونجر استفاده شد، اسانس‌گیری به مدت سه ساعت انجام شد، سپس اسانس‌های استخراج شده با سولفات سدیم خشک آبگیری و داخل ویال شیشه‌ای در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری گردید (Morshedloo *et al*., 2017)، بعد از اسانس‌گیری، عملکرد و درصد اسانس براساس وزن خشک نمونه محاسبه گردید (Poshtdar *et al*., 2016):

(۱) ۱۰۰ × (وزن خشک نمونه (۴۰ گرم)/ وزن اسانس)= درصد اسانس

(۲) درصد اسانس × ماده کل خشک (گرم در متر مربع)= عملکرد اسانس

اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه

بعد از جمع‌آوری نمونه‌های ریشه در تیمارهای حاوی قارچ مایکوریزا، ریشه‌ها را داخل هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد به مدت

1- Good agricultural practices

2- SPAD

۱۰–۵ دقیقه حرارت و سپس آن‌ها را با آب مقطر شستشو و بعد در محلول اسید هیدروکلریدریک دو مولار به مدت ۲۰–۱۵ دقیقه قرار داده شدند. جهت رنگ‌آمیزی، ریشه‌ها را داخل تریپان بلو[1] ۰/۰۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه حرارت و سپس با آب مقطر شستشو و سپس در محلولی که حاوی اسید لاکتیک، گلیسرول و آب بود تا زمان سنجش نگهداری شدند (McGonigle *et al*., 1990; Koske and Gemma, 1989; Phillips and Hayman, 1970). نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده توسط میکروسکوپ نوری الیمپوس مدل BH-2 مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند و از اندام‌ها و ریشه‌های قارچی که رنگ آبی به خود گرفته بودند عکس‌برداری شد. در نهایت درصد کلونیزاسیون با روش خطوط متقاطع محاسبه شد (Giovannetti and Mosse, 1980).

(۳) ۱۰۰ × مجموع ریشه‌های غیر آلوده/ مجموع ریشه‌های آلوده = درصد کلونیزاسیون ریشه

شناسایی ترکیبات اسانس

برای شناسایی ترکیبات اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) مدل Agilent 5977A ساخت کشور آمریکا، با ستون HP-5 MS (۵ درصد فنیل متیل پلی سیلوکسان، به‌طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ماده جاذب ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. در برنامه‌ریزی دمایی آون، ابتدا دما در عرض ۵ دقیقه به ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسیده سپس به‌تدریج دما با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید. بعد از آن به مدت ۲۰ دقیقه در این دما نگه‌داری شد. هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد. ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. محفظه تزریق در حالت تقسیم (نسبت تقسیم ۱:۳۰) تنظیم شده بود و محدوده جذب جرمی از ۴۰ تا ۴۰۰ *m/z* بود. به منظور محاسبه شاخص بازداری پیک‌ها، مخلوطی از هیدروکربن‌های آلیفاتیک (C8-C40) تحت شرایط تحلیلی بالا به داخل سیستم GC تزریق شد. نرم‌افزار مورد استفاده Chemstation بود. محاسبه و شناسایی ترکیبات اسانس به کمک شاخص‌های بازداری خطی آن‌ها و مقایسه‌ی آن با شاخص‌های موجود در کتاب مرجع (Adams, 2007) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌ی کامپیوتری صورت گرفت. برای جداسازی ترکیبات از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7990B ساخت کشور آمریکا با آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) و ستون VF-5MS استفاده شد. دمای تزریق و آشکارساز به‌ترتیب روی ۲۳۰ و ۲۴۰ سانتی‌گراد تنظیم شده بودند. گاز هلیوم با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه و نسبت تقسیم ۱:۲۴ استفاده شده بود. نمونه‌های اسانس به نسبت ۱:۱۰۰ در هگزان رقیق‌سازی و به میزان ۱ میکرولیتر تزریق شدند. کمی کردن ترکیبات اسانس با استفاده از نرمال‌سازی سطح پیک و بدون استفاده از ضرایب اصلاح انجام شد (Morshedloo *et al*., 2018). در نهایت بعد از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس به‌صورت اسپلیت پلات در زمان با استفاده از نرم‌افزار آماری MSTAT-C و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

درصد کلونیزاسیون ریشه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که درصد کلونیزاسیون تحت تأثیر معنی‌دار انواع مختلف کود در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین درصد کلونیزاسیون (۷۷/۱ درصد) با کاربرد قارچ مایکوریزا بدون تفاوت معنی‌دار با تیمار نانو کود+ مایکوریزا حاصل شد. کمترین میزان درصد کلونیزاسیون (۵۷/۶) در تیمار ۵۰ درصد کود شیمیایی+ قارچ مایکوریزا مشاهده شد (شکل ۱). میزان کلونیزاسیون و فراوانی آربوسکول در خاک‌هایی که از کودهای زیستی و آلی به‌جای کودهای شیمیایی استفاده شده، بیشتر است (Kahiluoto *et al*., 2009; Galvan *et al*., 2009). اسمایث و رید (Smith and Read, 2008) گزارش کردند که مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی بر جمعیت میکروبی کودهای زیستی تأثیر منفی گذاشته و استفاده درازمدت و بی‌رویه از این کودها منجر به کاهش فعالیت زیستی این موجودات می‌شود. از طرفی کاربرد بی‌رویه و دراز مدت کودهای شیمیایی منجر به کاهش ماده آلی خاک شده که این نیز به نوبه خود بر روی میکروارگانیسم‌های مفید تأثیر منفی خواهد گذاشت (Smith and Read, 2008). در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، عبداللهی و شریف (Abdullahi and Sheriff, 2013) مشاهده کردند که کاربرد کودهای شیمیایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم منجر به کاهش درصد کلونیزاسیون می‌شود. علاوه بر این نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج آزمایشات گریندر و همکاران (Gryndler *et al*., 2005) و ولنتین و همکاران (Valentine *et al*., 2001) مطابقت داشت. طبق نتایج اسمایث و رد (Smith and Read, 2008) در دسترس بودن فسفر در خاک عامل مهمی برای رابطه همزیستی با قارچ مایکوریزا می‌باشد. کاربرد مقادیر کم فسفر در خاک می‌تواند کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ مایکوریزا را افزایش بدهد.

1-Trypan blue

جدول ۱- نتایج تجزیه خاک قبل از شروع آزمایش (عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر)

Table 1- Soil analysis results befor beginning the experiment (depth 0-30 cm)

بافت Texture	شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)	ماده آلی Organic matter (%)	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	pH	مقدار پتاسیم تبادلی Amount of exchangeable potassium ($mg.kg^{-1}$)	ظرفیت تبادل کاتیونی Cation exchange capacity ($Cmolc.kg^{-1}$)	فسفر قابل جذب Available phosphorus ($mg.kg^{-1}$)	نیتروژن کل Total nitrogen (%)
لومی رسی شنی (Sandy clay loam)	56	16.5	27.5	0. 08	1.18	8.16	570.85	27	9.42	0.089

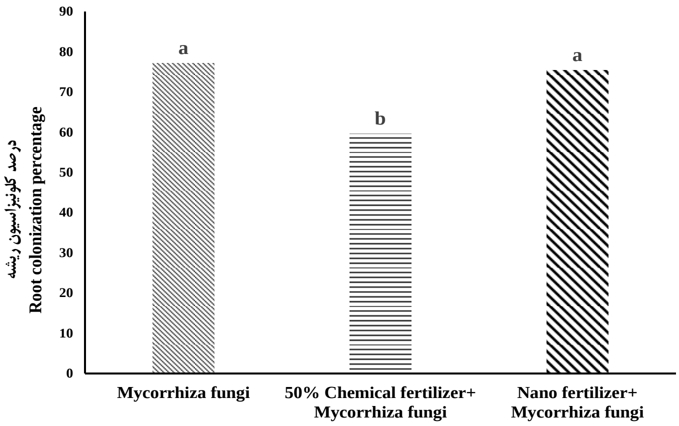
جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) مربوط به درصد کلونیزاسیون ریشه نعناع‌فلفلی

Table 2- Analysis of variance (mean of squares) related to root colonization percentage of *Mentha piperita*

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	درصد کلونیزاسیون ریشه Root colonization percentage
Replication	تکرار	2	10.152 ns
Fertilizer treatements (T)	تیمارهای کودی	2	290.219 **
Error	خطا	4	2.470
Coefficient of variation (%)	ضریب تغییرات		2.2

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار

* , ** and ns: Significant at 5 and 1% levels of probability and non-significant



شکل ۱- میانگین درصد کلونیزاسیون ریشه در تیمارهای قارچ مایکوریزا، قارچ مایکوریزا+ ۵۰ درصد کود شیمیایی و قارچ مایکوریزا+ نانو کود.

ستون‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن ندارند.

Figure 1- Means of root colonization percentage in mycorrhiza fungi, 50 % chemical fertilize + mycorrhiza fungi and nano fertilizer + mycorrhiza fungi treatements

The columns having one common letter are not significant differences at 5% probability level using Duncan Test.

ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارتفاع بوته تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای کودی، چین و ترکیب تیماری نوع کود × چین قـرار گرفـت (جدول ۳). بیشترین ارتفاع بوته نعناع فلفلی (۵۰/۸ سانتی‌متر) در چین اول با کاربرد قارچ مایکوریزا به‌دست آمـد کـه تفـاوت معنـی‌داری بـا تیمارهای ۵۰ درصد کود شیمیایی+ مایکوریزا، ۵۰ درصـد نـانو کـود+ ۵۰ درصـد کـود شـیمیایی، ۱۰۰ درصـد کـود شـیمیایی، نـانو کـود+ مایکوریزا و نانو کود کامل نداشت. همچنین کمترین میزان ارتفاع بوته (۲۸/۶ سانتی‌متر) در شاهد (عدم مصرف) و در چین دوم حاصـل شـد (جدول ۴). دلیل افزایش ارتفاع بوته در نتیجه کاربرد قـارچ مـایکوریزا احتمالاً به جذب بهتر عناصر غـذایی از قبیـل نیتـروژن، روی، فسـفر، آمونیوم، مس و پتاسیم نسبت داده می‌شود کـه در نهایـت منجـر بـه بهبود صفات رشدی و عملکردی از قبیل ارتفاع بوتـه و تعـداد شـاخ و برگ می‌گردد (Baum *et al*., 2015). در آزمایش ویسانی و همکاران (Weisany *et al*., 2017) مشـخص شـد کـه صـفات رشـدی و عملکردی در گیاهان شنبلیله (.*Trigonella foenum graecum* L)، گشنیز (.*Coriandrum sativum* L) و سـیاهدانه (*Nigella sativa* L.) با کاربرد قارچ مایکوریزا بهبود پیدا کردند. در تحقیقی دیگر کاربرد

قارچ مایکوریزا باعث افزایش ارتفاع بوته و وزن کل ماده خشک گیاه انیسون (*Pimpinella anisum* L.) گردید (Masoumi Zavarian *et al*., 2015).

تعداد شاخه جانبی

تعداد شاخه جانبی در هر بوته تحت تأثیر معنی‌دار انواع مختلف کود و چین قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین تعداد شاخه جانبی (۱۹/۴ عدد) به تیمار ۵۰ درصد کود شیمیایی+ قارچ مایکوریزا بدون تفاوت معنی‌دار با تیمارهای ۱۰۰ درصد کود شیمیایی، ۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانوکود، نانو کود+ قارچ مایکوریزا تعلق داشت. همچنین کمترین تعداد شاخه جانبی (۱۲/۹ عدد) در شاهد حاصل شد (جدول ۵). علاوه بر این، نتایج نشان داد، چین دوم تعداد شاخه جانبی بیشتری نسبت به چین اول تولید نمود (جدول ۶). دلیل این افزایش را می‌توان به آزادسازی تدریجی عناصر غذایی از نانوکودها و همزیستی بهتر گیاه با قارچ مایکوریزا در چین دوم نسبت داد. قارچ مایکوریزا از طریق افزایش تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه مانند جیبرلین (تأثیر در رشد طولی سلول‌ها به‌ویژه میانگره‌های ساقه)، اکسین و سیتوکینین (تأثیر در تقسیم سلولی) سبب افزایش صفات رویشی از قبیل تعداد شاخه جانبی می‌گردد (Gutierrez Manero *et al*., 2001) و از طرفی با توجه به اینکه نیتروژن نقش اساسی در ساختمان کلروفیل دارد و همچنین مهمترین عنصر در سنتز پروتئین‌ها می‌باشد و افزایش آن در شرایط مطلوب تا حد مشخصی موجب افزایش میزان پروتئین می‌گردد، می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش پروتئین‌ها، گیاه به توسعه سطح برگ، تعداد شاخه فرعی و قطر ساقه می‌پردازد که در نتیجه آن افزایش مواد فتوسنتزی را به دنبال دارد (Rahmani *et al*., 2008). در پژوهشی کاربرد قارچ مایکوریزا (*Glomus mosseae*) بر روی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) باعث افزایش وزن خشک کل گیاه، تعداد شاخه جانبی، وزن خشک ریشه و ارتفاع گیاه شد (Aslani *et al*., 2011).

شاخص کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد شاخص کلروفیل تحت تأثیر معنی‌دار ترکیب تیماری نوع کود و چین قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین شاخص کلروفیل (۸۰/۹) به تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی بدون تفاوت معنی‌دار با تیمار ۵۰ درصد کودشیمیایی+ ۵۰ درصد نانو کود در چین دوم تعلق داشت. کمترین میزان شاخص کلروفیل (۳۴/۵) در چین اول و در حالت بدون مصرف کود مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر حاصلخیزکننده‌های خاک و چین بر صفات مورفولوژیکی نعناع‌فلفلی

Table 3- Results of analysis of variance for soil and harvest fertilizers effect on *Mentha piperita* morphological traits

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات MS							
			ارتفاع بوته Plant height	تعداد شاخه‌ی جانبی در هر بوته Number of lateral branches per plant	شاخص کلروفیل SPAD	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن خشک ساقه Stem dry weight	وزن خشک کل Total dry weight	درصد اسانس Essential oil percentage	عملکرد اسانس Essential oil yeild
Replication	تکرار	2	0.543 ns	0.368 ns	13.230 ns	1118.853 *	133.591 ns	2015.553 ns	0.039 ns	1.019 ns
Fertilizer treatements (T)	تیمارهای کودی	6	118.845 **	32.523 *	833.813 **	7955.44 **	2123.828 **	18224.92**	0.300 **	11.963 **
Error a	خطای a	12	6.66	8.061	9.857	282.529	195.821	812.396	0.015	0.519
Harvest (H)	چین	1	1242.605 **	1527.158 **	2335.1 **	53063.35 **	12695.048**	117666.57**	11.409 **	0.363 ns
T×H	تیمار کودی×چین	6	23.425 **	7.801 ns	94.30 **	2334.06**	495.987 **	4931.14 **	0.123 **	0.755 ns
Error b	خطای b	14	4.549	5.672	14.432	454.315	108.662	912.135	0.023	0.389
Coefficient of variation (%)	ضریب تغییرات (٪)		5.08	13.98	6.50	14.14	13.63	13.29	7.17	13.64

*، ** و ns بترتیب معنی دار در سطح ۱ و ۵ درصد و عدم تفاوت معنی دار

*, ** and ns: Significant at 5 and 1% levels of probability and Non-significant

جدول ٤- مقایسه میانگین ارتفاع بوته، شاخص کلروفیل، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک کل و درصد اسانس نعناع‌فلفلی در ترکیب تیمار کودی و چین

Table 4- Means comparison of plant height, SPAD, leaf dry weigh, stem dry weigh, total dry weight and essential oil percentage of *Mentha piperita* in treatement combinations of fertilizer patterns×cutting

ترکیب تیمار کودی و چین Treatement combinations of fertilizer patterns×cutting		صفات Traits					
		ارتفاع گیاه Plant height (cm)	شاخص کلروفیل SPAD	وزن خشک برگ Leaf dry weight ($g.m^{-2}$)	وزن خشک ساقه Stem dry weight ($g.m^{-2}$)	وزن خشک کل Total dry weight ($g.m^{-2}$)	درصد اسانس Essential oil content (%)
T1	H1	37.68 cd	34.53 f	89.79 e	43.41 ef	133.2 e	2.153 c
T1	H2	28.58 f	53.30 d	133.5 cd	71.67 bc	205.2 cd	1.473 ef
T2	H1	48.25 a	70.07 b	135.9 cd	72.44 bc	208.3 bcd	2.920 ab
T2	H2	42.50 b	82.90 a	254.6 a	127.9 a	382.6 a	1.527 def
T3	H1	50.75 a	40.50 ef	113. 6 cde	61.36 cde	175 cde	2.763 b
T3	H2	33.33 e	59.40 cd	126.7 cde	67.97 cd	194.6 cd	1.647 def
T4	H1	50.08 a	63.63 bc	140.3 bcd	74.94 bc	215.3 bc	2.750 d
T4	H2	40.92 bc	65.40 bc	236.5 a	120.2 a	356.7 a	1.750 d
T5	H1	47.33 a	41.50 e	92.72 e	42.28 f	135 e	2.383 c
T5	H2	34.42 de	63.86 bc	173.7 b	86.61 b	260.3 b	1.443 f
T6	H1	49.88 a	61.50 c	130.1 cd	67.17 cd	197.2 cd	3.127 a
T6	H2	41.67 b	77.03 a	253.8 a	114.7 a	350.5 a	1.713 de
T7	H1	47.75 a	43.40 e	103.8 de	52.25 def	156.1 de	2.297 c
T7	H2	34.17 de	61.17 c	143 be	68.17 cd	211.2 bc	1.543 def

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارد.

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level using Duncan Test.

T1 (شاهد)، T2 (۱۰۰ درصد کود شیمیایی)، T3 (کاربرد مایکوریزا)، T4 (۵۰ درصد کودشیمیایی+ مایکوریزا)، T5 (نانوکود)، T6 (۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانوکود)، T7 (نانوکود+ مایکوریزا). H1 (چین اول)، H2 (چین دوم)

T1 (Control), T2 (100% Chemical fertilizer), T3 (Mycorrhiza fungai), T4 (50% Chemical fertilizer+ Mycorrhiza), T5 (Nanofertilizer), T6 (50% Chemical fertilizer+ 50% nanofertilizer), T7 (Nanofertilizer+ Mycorrhiza). H1 (Firat harvest), H2 (Second harvest)

جدول ۵- مقایسه میانگین تعداد شاخه‌ی جانبی در هر بوته و عملکرد اسانس نعناع فلفلی تحت تأثیر کاربرد انواع مختلف کود

Table 5- Means comparison of number of lateral branche per plant and essential oil yeild of *Mentha piperita* affected by different fertilizer application

تیمارهای آزمایشی Treatements	تعداد شاخه‌ی جانبی در هر بوته Number of lateral branche per plant	عملکرد اسانس Essential oil yield ($g.m^{-2}$)
شاهد Control	12.85 c	2.94 c
۱۰۰ درصد کود شیمیایی 100% Chemicla fertilizer	19.33 a	5.99 a
قارچ مایکورزا Mycorrhiza fungai	16.68 ab	4.02 b
۵۰ درصد کودشیمیایی+ قارچ مایکوریزا 50% Chemical fertilizer+ Mycorrhiza fungai	19.42 a	6.07 a
نانو کود Nano fertilizer	15.41 bc	3.48 bc
۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانو کود 50% Chemical fertilizer+ 50% Nano fertilizer	18.11 ab	6.07 a
نانو کود + قارچ مایکوریزا Nano fertilizer+ Mycorrhiza fungai	17.40 ab	3.43 bc

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارد.

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level using Duncan Test.

جدول ٦- مقایسه میانگین ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌ی جانبی در هر بوته، شاخص کلروفیل، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک کل و درصد اسانس نعناع فلفلی در بین چین‌ها

Table 6- Means comparison of plant height, number of lateral branches per plant, SPAD, leaf dry weigh, stem dry weigh, total dry weight and essential oil percentage of *Mentha piperita* in between of cuttings

چین Harvest	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد شاخه‌ی جانبی در هر بوته Number of lateral branches per plant	شاخص کلروفیل SPAD	وزن خشک برگ Leaf dry weight ($g.m^{-2}$)	وزن خشک ساقه Stem dry weight ($g.m^{-2}$)	وزن خشک کل Total dry weight ($g.m^{-2}$)	درصد اسانس Essential oil content
چین اول First cutting	47.39 ^{a}	11 ^{b}	50.99 ^{b}	115.18 ^{b}	59.12 ^{b}	174.30 ^{b}	2.62 ^{a}
چین دوم Second cutting	36.51 ^{b}	23.06 ^{a}	65.90 ^{a}	186.27 ^{a}	93.89 ^{a}	280.16 ^{a}	1.59 ^{b}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارد.

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level using Duncan Test.

علاوه بر این با مقایسه دو چین (جدول ۶) مشاهده شد که شاخص کلروفیل در چین دوم ۲۹/۲۴ درصد بیشتر از چین اول بود. با توجه به اینکه هر مولکول کلروفیل دارای ۴ اتم نیتروژن می‌باشد و با توجه به همبستگی مثبت محتوای کلروفیل با میزان نیتروژن در دسترس گیاه می‌توان بیان کرد که با مصرف کود نیتروژن میزان کلروفیل گیاه افزایش می‌یابد و از طرفی بالاتر بودن میزان کلروفیل با کاربرد تلفیقی نانوکود را می‌توان به آزادسازی تدریجی عناصر غذایی و جذب موثرتر این عناصر در طول دوره‌های مختلف رشدی گیاه نسبت داد (Liu and Lal, 2015). الفکی و همکاران (Elfeky *et al.*, 2013) نتیجه گرفتند که کاربرد نانوکود آهن منجر به افزایش شاخص کلروفیل، ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گردید. همچنین کاربرد تلفیقی نانو کودهای آهن و روی منجر به افزایش معنی‌دار شاخص کلروفیل نسبت به تیمار شاهد (عدم مصرف) در گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) گردید (Babaei *et al.*, 2017).

وزن خشک برگ، ساقه و کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد وزن خشک برگ، ساقه و کل تحت تأثیر معنی‌دار اثر تیمارهای کودی، چین و ترکیب تیماری کود و چین قرار گرفتند (جدول ۳). بیشترین میزان وزن خشک برگ (۲۵۴/۶ گرم در متر مربع)، وزن خشک ساقه (۱۲۷/۹ گرم در متر مربع) و وزن کل ماده خشک (۳۸۲/۶ گرم در متر مربع) در تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی بدون تفاوت معنی‌دار با تیمارهای ۵۰ درصد کود شیمیایی+ مایکوریزا و ۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانو کود در چین دوم مشاهده شدند و کمترین میزان وزن خشک برگ (۸۹/۸ گرم در متر مربع) و وزن خشک ساقه (۴۲/۳ گرم در متر مربع) به‌ترتیب در شاهد و تیمار نانو کود در چین اول حاصل شد (جدول‌های ۳ و ۴). همچنین کمترین وزن کل ماده خشک نعناع‌فلفلی در چین اول در شاهد و تیمار نانوکود مشاهده شد (جدول ۴). بیشتر بودن وزن خشک در تیمار شیمیایی را می‌توان به نقش نیتروژن در افزایش ماده خشک و افزایش طول دوره رشدی نسبت داد، زیرا نیتروژن با افزایش تقسیم و افزایش تورژسانس سلول‌های مریستمی باعث افزایش رشد رویشی و شاخه‌دهی در گیاهان می‌شود (Hagh Parast Tanha, 1992). علاوه بر این، زمانی که مقدار کافی نیتروژن در دسترس گیاه باشد، میزان فتوسنتز افزایش و باعث می‌شود تا گیاه رشد سریعی داشته و بیوماس قابل‌توجهی تولید کند، علاوه براین کاربرد کود شیمیایی نیتروژنه جذب و تجمع عناصر دیگر مانند فسفر و پتاسیم را هم افزایش می‌دهد (Baranauskiene *et al.*, 2003). همچنین همزیستی با قارچ مایکوریزا علاوه بر فسفر، می‌تواند بخش اندکی نیتروژن مورد نیاز گیاه را نیز تأمین می‌کند. نیتروژن محدود شده در مواد آلی معمولاً در ترکیب پپتیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه آزاد وجود دارد که قارچ مایکوریزا با ترشح پپتیداز و پروتئاز به داخل خاک باندهای نیتروژن ارگانیکی را شکسته، سپس مونومرهای نیتروژن‌دار را جذب می‌کند (Varma *et al.*, 2018). در پژوهشی با کاربرد کود شیمیایی، ماده خشک تولیدی در بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) به دلیل افزایش حجم کانوپی گیاه، افزایش سطح برگ و جذب نور بیشتر افزایش یافت (Francis *et al.*, 2000). مصرف کود شیمیایی باعث افزایش ارتفاع گیاه، تعداد برگ و گره در بوته، شاخص سطح برگ، عملکرد تر و خشک در نعناع فلفلی شد (Izadi *et al.*, 2010). همچنین یوسف‌زاده و همکاران (Yousefzadeh *et al.*, 2016)، با بررسی تأثیر کاربرد کود زیستی، نیتروژن و آزوکمپوست روی گیاه بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) گزارش کردند که کود نیتروژن باعث افزایش عملکرد ماده خشک گردید. با مقایسه دو چین (جدول ۶) مشاهده می‌شود که چین

دوم نسبت به چین اول به‌ترتیب ۶۱/۷، ۵۸/۸ و ۶۰/۷ درصد وزن خشک برگ، ساقه و کل بیشتری را تولید نمود. افزایش وزن خشک برگ، ساقه و کل در چین دوم را می‌توان به افزایش تعداد شاخه‌های جانبی و متعاقب آن افزایش میزان برگ و ساقه تولیدی نسبت داد. علاوه بر این، به‌نظر می‌رسد که در چین دوم، ریشه گیاه به‌خوبی در خاک توسعه یافته و اثرات مفید کودهای مصرف شده قبل از کشت نیز بیشتر از چین اول ظاهر شده و در نهایت توان تولید ماده خشک در گیاه افزایش یافته است (Shajari Aghhavani *et al.*, 2016). همچنین در مراحل ابتدایی رشد گیاه، رابطه همزیستی به تکامل نرسیده و قارچ مایکوریزا توانایی بهبود شرایط رشد گیاه را نداشته است، در حالی‌که مواد غذایی مورد نیاز خود را که حاصل فرآیند فتوسنتز گیاه بوده از شریک همزیست خود دریافت کرده که این موضوع باعث کاهش رشد گیاه در چین اول شده است. در دومین چین رابطه همزیستی بین گیاه و قارچ مایکوریزا به‌خوبی شکل گرفته و قارچ با ایجاد شرایط مطلوب‌تری باعث افزایش رشد و ماده خشک نعناع‌فلفلی شد (Cabello *et al.*, 2005). نعناع‌فلفلی یک گیاه چند ساله می‌باشد و در طول چرخه‌ی رشد ممکن است چند چین برداشت نمود، لذا افزایش تولید ماده خشک پس از اولین برداشت نشان‌دهنده‌ی مزایای اقتصادی و زراعی آن می‌باشد (Cabello *et al.*, 2005). کابلو و همکاران (Cabello *et al.*, 2005)، با بررسی اثر قارچ مایکوریزا (*Glomus mosseae*) و یک قارچ حل‌کننده فسفات (*Penicillium thomii*) بر نعناع فلفلی، افزایش تولید ماده خشک را در چین دوم نسبت به چین اول گزارش نمودند.

درصد اسانس

درصد اسانس تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای کودی، چین و ترکیب تیماری نوع کود و چین در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین درصد اسانس (۳/۱ درصد) به تیمار ۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانوکود بدون تفاوت معنی‌دار با تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی در چین اول حاصل شد و کمترین میزان اسانس (۱/۵ درصد) هم به شاهد در چین اول تعلق داشت (جدول ۴). علاوه بر این، با مقایسه دو چین (جدول ۶) مشاهده شد که درصد اسانس در چین اول ۶۴/۷ درصد بیشتر از چین دوم بود. به‌طور کلی غلظت اسانس نعناع فلفلی تحت تأثیر فاکتورهای محیطی مثل دوره نوری، دما، روشنایی و فاکتورهای زراعی مثل تیمارهای خاکی، مواد غذایی و یا عناصر کم‌مصرف قرار می‌گیرد که می‌تواند تغییراتی را در نوع و مقدار ترکیبات اسانس به‌وجود آورد (Zheljazkov *et al.*, 2009). علت بیشتر بودن درصد اسانس چین اول این است که نعناع فلفلی یک گیاه روزبلند بوده و در طی روزهای بلند و گرم حداکثر اسانس را تولید می‌کند. از آنجایی که در چین دوم روزها کوتاه‌تر بوده و هوا رو به سردی می‌رود، بنابراین درصد اسانس به شدت کاهش می‌یابد (Hassiotis *et al.*, 2014). در تطابق با نتایج پژوهش حاضر هاسیوتیس و همکاران (Hassiotis *et al.*, 2014) نتیجه گرفتند که میزان تولید اسانس و به تبع آن تولید ترکیبات ترپنی در گیاهان دارویی تحت تأثیر منفی دماهای پایین و بارندگی قرار می‌گیرد. همچنین این محققان دلیل کاهش اسانس تولید شده در این شرایط را به تخریب غدد ترشحی اسانس و کاهش اندازه آن‌ها نسبت دادند.

از آنجایی‌که اسانس ترکیبی ترپنوئیدی است و بیوسنتز واحدهای سازنده آن (ایزوترپینوئیدها) به استیل کوآنزیم آ، ATP، NADPH و غلظت فسفر معدنی در گیاه بستگی دارد. بنابراین عناصری همچون نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیبات اخیر ضروری است (Ormeno and Fernandez, 2012). در پژوهشی مصرف کود شیمیایی میزان فتوسنتز و توسعه سطح برگ و میزان تولید بیوماس در واحد سطح را افزایش داد که در نهایت باعث افزایش درصد اسانس گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) شد (Azizi *et al.*, 2009). زینعلی و همکاران (Zeinali *et al.*, 2014) افزایش بیوماس و درصد اسانس نعناع‌فلفلی را با کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن مشاهده کردند. نتایج تحقیق دیگر، نشان داد که عملکرد گل و درصد اسانس در گل همیشه بهار (*Calendula officinalis*) تحت تأثیر نانو کود کلات آهن افزایش یافت (Amuamuha *et al.*, 2012). همچنین زهتاب سلماسی و همکاران (Zehtab-Salmasi *et al.*, 2008)، با بررسی اثرات محلول‌پاشی عناصر میکرو (بر، آهن و روی) بر بیوماس و تولید اسانس در گیاه نعناع‌فلفلی گزارش کردند که با کاربرد عناصر ریزمغذی عملکرد و درصد اسانس، وزن خشک و تر و سطح برگ افزایش یافت.

عملکرد اسانس

تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که عملکرد اسانس فقط تحت تأثیر معنی‌دار انوع مختلف کود قرار گرفت. بیشترین عملکرد اسانس (۶/۱ گرم در مترمربع) به تیمار ۵۰ درصد کود شیمیایی+ قارچ مایکوریزا بدون تفاوت معنی‌دار با تیمارهای ۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانو کود و ۱۰۰ درصد کود شیمیایی مربوط بود و کمترین میزان عملکرد اسانس (۲/۹ گرم در متر مربع) هم به شاهد تعلق داشت (جدول ۵). احتمالاً قارچ مایکوریزا جذب مواد معدنی را از خاک تسهیل کرده که می‌تواند به افزایش فتوسنتز، اندازه و تعداد غده‌های ترشح‌کننده اسانس منجر شود. افزایش فتوسنتز گام اول برای تولید

ترپنوئیدها می‌باشد. علاوه بر این، تعدادی از ریزمغذی‌ها (منگنز، مس و روی) در حقیقت به‌عنوان کوفاکتور برای آنزیم‌های موردنیاز بیوسنتز ترپنوئیدها مطرح می‌باشند (Kapoor *et al*., 2017). کاپور و همکاران (Kapoor *et al*., 2017) افزایش تولید ترپنوئیدها را به افزایش جذب فسفر و سایر عناصر غذایی در گیاهان تلقیح شده با مایکوریزا نسبت دادند. زیرا افزایش شبکه گسترده هیف قارچی باعث می‌شود تا گیاه مواد مغذی بیشتری را جذب کرده که منجر به افزایش تجمع ترپنوئیدها و در نهایت عملکرد اسانس خواهد شد. در پژوهشی اثر سه گونه قارچ مایکوریزا (*Glomus fasciculatum*، *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae*) روی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) مورد آزمایش قرار گرفت، نتایج نشان داد که گیاهان تلقیح شده با قارچ ارتفاع بوته، وزن تر و خشک، محتوای و عملکرد اسانس بیشتری نسبت به شاهد داشت، همچنین غلظت لینالول و متیل کاویکول در گیاهان تلقیح شده با قارچ مایکوریزا نسبت به شاهد بیشتر بود (Zolfaghari *et al*., 2013). بهادری و همکاران (Bahadori *et al*., 2013) با کاربرد قارچ مایکوریزا (*Glomus moseae*) و ریزو باکتری‌های محرک رشد گیاه (*Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescens*) روی گیاه آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak) گزارش کردند که تلقیح با *G. moseae* و *B. subtilis* به‌ترتیب منجر به افزایش ۷۵، ۱۱۷ و ۹۳ درصدی نسبت وزن خشک ساقه/ریشه، وزن خشک کل و عملکرد اسانس نسبت به کاربرد مجزای *G. mosea*e و *B. subtili*s و شاهد شد. همچنین غلظت تیمول در تمامی تیمارهای میکروبی تلقیح شده به‌جز شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته بود. جینوا و همکاران (Geneva *et al*., 2010) با کاربرد قارچ مایکوریزا (*Glomus intraradices*) به همراه محلول‌پاشی عناصر ماکرو و میکرو بر گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) گزارش کردند که کاربرد قارچ مایکوریزا توانست غلظت بورنیل استات، ۸ و۱-سینئول، آلفا و بتا توجن این گیاه را افزایش دهد.

ترکیبات اسانس

با تجزیه اسانس نعناع فلفلی، ۲۸ ترکیب شناسایی شد که ۹۶-۹۲ درصد از کل ترکیبات را شامل می‌شود. در چین اول منتول (۳۵/۵-۲۶/۷ درصد)، منتون (۳۴-۲۴/۵ درصد)، ۸ و۱ سینئول (۶/۵-۵/۹ درصد)، نئوایزو-منتول (۴/۱-۲/۸)، نئومنتول (۴-۲/۷ درصد)، ترکیبات غالب اسانس بودند (جدول ۷). همچنین در چین دوم منتول (۴۶/۳-۴۲/۴ درصد)، پی-منس-ال-این-۹-اُل (۱۴/۶-۱۱/۴)، منتون (۱۴/۷-۴/۹ درصد)، نئومنتول (۶/۲-۴/۶ درصد)، ۸ و۱ سینئول (۵/۲-۴/۵ درصد)، منتوفوران (۴/۲-۲/۶ درصد)، ترکیبات غالب اسانس بودند (جدول ۸).

مقایسه میزان ترکیبات ترپنی اسانس تیمارهای مختلف در جداول ۹ و ۱۰ ارائه شده است. در چین اول بیشترین میزان مونوترپن‌های هیدروکربنه و مونوترپن‌های اکسیژنه به‌ترتیب در تیمارهای شاهد (عدم مصرف) و ۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانو کود مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنه و اکسیژنه به‌ترتیب در تیمارهای نانو کود + قارچ مایکوریزا و قارچ مایکوریزا مشاهده شد. (جدول ۹). در چین دوم بیشترین میزان مونوترپن‌های هیدروکربنه و مونوترپن‌های اکسیژنه به‌ترتیب در تیمارهای نانو کود+ قارچ مایکوریزا و شاهد حاصل شدند. علاوه بر این، بیشترین میزان سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنه به تیمار نانو کود تعلق داشت. همچنین بیشترین میزان سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژنه به تیمارهای نانو کود و قارچ مایکوریزا تعلق داشت. (جدول ۱۰). در رابطه با تغییرات مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌ها می‌توان اظهار داشت که کرک‌های غده‌ای ساختارهای ترشحی اپیدرمی هستند که ترپنوئیدها را در گیاهان سنتز و ذخیره می‌کنند. همبستگی مثبتی بین افزایش غلظت ترپنوئیدها و تراکم کرک‌های غده‌ای در تعدادی از گیاهان مانند نعناع‌فلفلی (*Mentha piperita* L.)، لوبیا لیما (*phaseolus lunatus*) و اسطوخودوس (*Lavendula angustifolia*) مشاهده شده است. افزایش غلظت ترپنوئیدها پس از تلقیح با مایکوریزا اغلب به افزایش تراکم غده‌ها نسبت داده شده است (Kapoor *et al*., 2007). همچنین قارچ مایکوریزا ممکن است تجمع مونو یا دی‌ترپن‌ها را از طریق فعالیت آنزیمی افزایش بدهد که از ژرانیل دی فسفات (GPP) پیش ماده‌ی مشترک آن‌ها شروع می‌شود (Mandal *et al*., 2015). علاوه بر این، قارچ مایکوریزا باعث ایجاد تغییراتی در غلظت فیتوهومون‌های گیاهی از قبیل اسید جاسمونیک، اسید ژیبرلیک و سیتوکینن می‌شود که این فیتوهورمون‌ها، تشکیل غده‌های ترشح‌کننده اسانس را بیشتر کرده در نتیجه منجر به تولید بیشتر متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Kapoor *et al*., 2017). قارچ مایکوریزا با تحریک ژن (Transparent TTG1 Testa Glabra 1) تولید غده‌های تولیدکننده اسانس را در گیاه درمنه یکساله (*Artemisia annua* L.) افزایش داد (Mandal *et al*., 2015). به‌طور کلی افزایش کمی ترپنوئیدها در گیاهان درنتیجه‌ی بیوسنتز بیشتر این ترکیبات و افزایش بیوماس می‌باشد که در اندام‌هایی مانند ساقه، برگ‌ها، گل‌ها و میوه‌ها سنتز و یا ذخیره می‌شوند (Kapoor *et al*., 2017).

جدول ۷- ترکیبات شناسایی شده اسانس نعناع‌فلفلی در چین اول تحت تأثیر کاربرد انواع مختلف کود

Table 7- Ingredients detected in essential oil of *Mentha piperita* in the first cutting affected by different fertilizer application

ردیف Row	Essential oil ingredients	اجزای تشکیل‌دهنده‌ی اسانس	شاخص بازداری Retention indices	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
1	*α*-Pinene	آلفا-پینن	931	0.62	0.60	0.60	0.59	0.56	0.57	0.55
2	Subinene	ساببنن	970	0.59	0.58	0.56	0.57	0.54	0.55	0.53
3	*β*-Pinene	بتا-پینن	975	1.01	0.97	0.98	0.97	0.94	0.93	0.93
4	Myrcene	میرسین	988	0.62	0.69	0.71	0.70	0.70	0.45	0.67
5	3-Octanol	۳-اُکتانول	1000	0.27	0.40	0.42	0.44	0.43	0.40	0.40
6	*α*-Terpinene	آلفا-ترپینن	1017	0.05	0.04	–	–	–	–	–
7	Limonene	لیمونن	1026	1.46	1.42	1.54	1.47	1.48	1.36	1.50
8	1,8-Cineole	۱و۸-سینئول	1029	6.51	6.03	6.02	5.90	6.31	5.89	6.34
9	*γ*-Terpinene	گاما-ترپینن	1058	0.20	0.15	0.26	0.08	0.27	0.24	0.26
10	*cis*-Sabinene hydrate	سیس-ساببنن هیدرات	1066	2.02	2.26	1.83	2.24	1.85	2.26	1.90
11	Linalol	لینالول	1103	0.49	0.46	0.47	0.46	0.46	0.43	0.48
12	Menthone	منتون	1152	24.77	34.97	24.54	30.98	24.76	34.24	25.24
13	Menthofuran	منتوفوران	1161	1.96	2.21	2.14	2.13	2	1.98	1.80
14	*neo*-Menthol	نئو-منتول	1163	4.02	2.78	3.99	3.13	3.73	2.74	3.70
15	Menthol	منتول	1175	35.46	26.73	34.25	30.24	34.60	28	34.39
16	Terpinene-4-ol	ترپینن-۴-اُل	1177	0.73	0.72	0.84	0.72	0.87	0.75	0.83
17	*neo*-*iso*-Menthol	نئو-ایزو-منتول	1184	2.84	3.46	3.98	3.82	4.08	3.55	3.76
18	Pulegone	پولیگون	1236	1.22	1.25	1.56	1.30	1.42	1.22	1.27
19	Piperitone	پیپریتون	1252	0.65	0.74	0.66	0.73	0.64	0.76	0.65
20	*neo*-Menthy acetate	نئو-منتی استات	1273	0.26	0.70	0.19	0.08	0.08	-	0.23
21	*p*–Menth-l-en-9-ol	پی-منت-یک-این-۹-اُل	1294	2.30	1.99	2.43	1.98	2.15	1.90	2.20
22	*iso*-Menthyl acetate	ایزو-منتیل استات	1307	0.02	-	–	–	–	–	–
23	*β*-bourbonene	بتا-بوربونن	1382	0.77	0.88	1.01	0.96	1	0.91	0.97
24	(*E*)-Caryophyllene	کاریوفیلین	1416	1.60	1.29	1.70	1.36	1.58	1.31	1.79
25	(*E*)-*β*-Farnesene	بتا-فارنسین	1457	0.25	0.14	0.26	0.16	0.25	0.22	0.28
26	Germacrene D	جرماکرین دی	1479	1.8	1.42	1.92	1.54	1.82	1.50	1.98
27	Elixene	الیکسن	1494	0.34	0.14	0.32	0.17	0.30	0.09	0.32
28	Viridiflorol	ویریدیفلورل	1589	0.65	0.43	0.65	0.50	0.62	0.47	0.64
	Total Indentified (%)			93.63	92.82	93.82	93.21	93.44	92.93	93.59

T1 (شاهد)، T2 (۱۰۰ درصد کود شیمیایی)، T3 (کاربرد قارچ مایکوریزا)، T4 (۵۰ درصد کودشیمیایی+ قارچ مایکوریزا)، T5 (نانو کود)، T6 (۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانو کود)، T7 (نانو کود+ قارچ مایکوریزا)

T1 (Control), T2 (100% Chemical fertilizer), T3 (Mycorrhiza), T4 (50% Chemical fertilizer+Mycorrhiza), T5 (Nanofertilizer), T6 (50% Chemical fertilizer+50% nanofertilizer), T7 (Nanofertilizer+ Mycorrhiza)

افزایش بیوماس برگ منجر به افزایش ظرفیت فتوسنتزی و در نتیجه تأمین مواد مورد نیاز برای بیوسنتز ترپینوئیدها خواهد شد (Hofmeyer *et al*., 2010). علاوه بر این، با توجه به اینکه نیتروژن از طریق افزایش نرخ انتقال الکترون و فتوسنتز برگ از تولید ترپینوئیدها حمایت می‌کند در نتیجه کمبود آن اثر منفی روی بیوسنتز ترپینوئیدها دارد (Ormeno and Fernandez, 2012).

جدول ۸- ترکیبات شناسایی شده اسانس نعناع‌فلفلی در چین دوم تحت تأثیر کاربرد انواع مختلف کود

Table 8- Ingredients detected in essential oil of *Mentha piperita* in the second cutting affected by different fertilizer application

ردیف Row	Essential oil ingredients	اجزای تشکیل‌دهنده‌ی اسانس	شاخص بازداری Retention indices	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
1	*α*-Pinene	آلفا-پینن	931	0.48	0.40	0.46	0.44	0.43	0.42	0.45
2	Subinene	سابینن	970	0.44	0.39	0.42	0.41	0.41	0.41	0.42
3	*β*-Pinene	بتا-پینن	975	0.60	0.66	0.75	0.69	0.72	0.68	0.74
4	Myrcene	میرسین	988	0.22	0.21	0.21	0.21	0.20	0.20	0.22
5	3-Octanol	۳-اُکتانول	1000	0.15	0.17	0.13	0.14	0.15	0.17	0.16
6	*α*-Terpinene	آلفا-ترپینن	1017	0.12	0.10	0.11	0.10	0.12	0.11	0.12
7	Limonene	لیمونن	1026	1.46	1.44	1.35	1.57	1.35	1.53	1.46
8	1,8-Cineole	۱و۸-سینئول	1029	5.23	4.73	4.93	4.51	4.99	4.56	5.04
9	*γ*-Terpinene	گاما-ترپینن	1058	0.20	0.17	0.19	0.18	0.21	0.20	0.20
10	*cis*-Sabinene hydrate	سیس-سابینن هیدرات	1066	1.58	1.90	1.67	1.93	1.56	1.74	1.61
11	Linalol	لینالول	1103	0.22	0.29	0.25	0.31	0.28	0.26	0.23
12	Menthone	منتون	1152	5.03	9.46	4.99	14.66	4.87	14.17	6.09
13	Menthofuran	منتوفوران	1161	4.20	2.67	3.50	2.65	3.50	2.59	3.64
14	*neo*-Menthol	نئو-منتول	1163	5.86	4.96	6.20	4.83	5.78	4.61	5.57
15	Menthol	منتول	1175	45.88	45.72	45.49	42.42	46.31	42.96	45.97
16	Terpinene-4-ol	ترپینن-۴-اُل	1177	0.57	0.50	0.54	0.50	0.61	0.57	0.56
17	*neo*-iso-menthol	نئو-ایزو-منتول	1184	1.99	1.67	2	1.46	1.96	1.42	1.90
18	Pulegone	پولیگون	1236	0.04	0.07	-	0.10	0.02	0.09	0.02
19	Piperitone	پیپریتون	1252	0.40	0.50	0.42	0.54	0.42	0.54	0.42
20	*neo*-Menthy acetate	نئو-منتی استات	1273	0.97	0.72	1.02	0.70	0.97	0.67	0.91
21	*p*-Menth-l-en-9-ol	پی-منت-یک-این-۹-اُل	1294	13.99	12.34	14.16	11.41	14.61	11.80	13.89
22	*iso*-Menthyl acetate	ایزو-منتیل استات	1307	0.71	0.64	0.72	0.59	0.74	0.60	0.70
23	*β*-Bourbonene	بتا-بوربونن	1382	0.60	0.54	0.59	0.52	0.60	0.50	0.59
24	(*E*)-Caryophyllene	کاریوفیلین	1416	2.15	2.11	2.13	1.93	2.19	1.95	2.18
25	(*E*)-*β*-Farnesene	بتا-فارنسین	1457	0.49	0.46	0.48	0.43	0.49	0.44	0.49
26	Germacrene D	جرماکرین دی	1479	2.35	2.47	2.39	2.33	2.41	2.35	2.38
27	Elixene	الیکسن	1494	0.34	0.35	0.36	0.33	0.36	0.33	0.35
28	Viridiflorol	ویریدیفلورل	1589	0.71	0.68	0.74	0.64	0.74	0.63	0.71
	Total Indentified (%)			96.95	96.77	96.16	96.49	96.97	96.53	96.98

T1 (شاهد)، T2 (۱۰۰ درصد کود شیمیایی)، T3 (کاربرد مایکوریزا)، T4 (۵۰ درصد کودشیمیایی+ مایکوریزا)، T5 (نانوکود)، T6 (۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانوکود)، T7 (نانوکود+ مایکوریزا)

T1 (Control), T2 (100% Chemical fertilizer), T3 (Mycorrhiza), T4 (50% Chemical fertilizer+Mycorrhiza), T5 (Nanofertilizer), T6 (50% Chemical fertilizer+50% nanofertilizer), T7 (Nanofertilizer+ Mycorrhiza)

جدول ۹- درصد مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌های اسانس نعناع‌فلفلی در چین اول تحت تأثیر انواع مختلف کود

Table 9- Monoterpenes and Sesquiterpenes percentage of essential oil of *Mentha piperita* in the first cutting affected by different fertilizer application

گروه‌بندی ترکیبات اسانس Grouped essential oil compounds	تیمارها Treatements						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Monoterpene Hydrocarbons مونوترپن‌های هیدروکربنه	4.71	4.45	4.66	4.37	4.48	4.30	4.44
Oxygenated Monoterpenes مونوترپن‌های اکسیژنه	83.26	83.66	82.88	83.71	82.96	83.72	82.78
Sesquiterpene Hydrocarbonates سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنه	4.73	3.88	5.21	4.18	4.96	4.03	5.33
Oxygenated Sesquiterpenes سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژنه	0.64	0.43	0.65	0.50	0.62	0.47	0.64
Other Compositions ترکیبات دیگر	0.27	0.40	0.42	0.44	0.43	0.41	0.40
Total Indentified Compounds (%) مجموع ترکیبات شناسایی شده	93.63	92.82	93.82	93.21	93.44	92.93	93.59

T1 (شاهد)، T2 (۱۰۰ درصد کود شیمیایی)، T3 (کاربرد مایکوریزا)، T4 (۵۰ درصد کودشیمیایی+ مایکوریزا)، T5 (نانوکود)، T6 (۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانوکود)، T7 (نانوکود+ مایکوریزا)

T1 (Control), T2 (100% Chemical fertilizer), T3 (Mycorrhiza), T4 (50% Chemical fertilizer+Mycorrhiza), T5 (Nanofertilizer), T6 (50% Chemical fertilizer+50% nanofertilizer), T7 (Nanofertilizer+ Mycorrhiza)

جدول ۱۰- درصد مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌های اسانس نعناع‌فلفلی در چین دوم تحت تأثیر انواع مختلف کود

Table 10- Monoterpenes and Sesquiterpenes percentage of essential oil of *Mentha piperita* in the second cutting affected by different fertilizer application

گروه‌بندی ترکیبات اسانس Grouped essential oil compounds	تیمارها Treatements						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Monoterpene Hydrocarbons مونوترپن‌های هیدروکربنه	3.51	3.36	3.48	3.58	3.43	3.56	3.59
Oxygenated Monoterpenes مونوترپن‌های اکسیژنه	86.66	86.63	85.87	86.58	86.61	86.59	86.53
Sesquiterpene Hydrocarbonates سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنه	5.92	5.93	5.94	5.54	6.04	5.58	5.98
Oxygenated Sesquiterpenes سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژنه	0.71	0.68	0.74	0.64	0.74	0.63	0.71
Other Compositions ترکیبات دیگر	0.15	0.17	0.13	0.14	0.15	0.17	0.16
Total Indentified Compounds (%) مجموع ترکیبات شناسایی شده	96.95	96.77	96.16	96.49	96.97	96.53	96.98

T1 (شاهد)، T2 (۱۰۰ درصد کود شیمیایی)، T3 (کاربرد مایکوریزا)، T4 (۵۰ درصد کود شیمیایی+ مایکوریزا)، T5 (نانوکود)، T6 (۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانوکود)، T7 (نانوکود+ مایکوریزا)

T1 (Control), T2 (100% Chemical fertilizer), T3 (Mycorrhiza), T4 (50% Chemical fertilizer+Mycorrhiza), T5 (Nanofertilizer), T6 (50% Chemical fertilizer+50% nanofertilizer), T7 (Nanofertilizer+ Mycorrhiza)

نتیجه‌گیری

نعناع‌فلفلی یکی از گیاهان دارویی مهم می‌باشد که تقاضا برای آن در صنعت رو به افزایش است، بنابراین بایستی به‌طور تجاری کشت شود. با توجه به اینکه این گیاه به‌صورت تازه و نیمه‌فرآوری شده به‌عنوان دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد، کشت آن از طریق منابع ارگانیک گزینه‌ی بسیار مناسبی خواهد بود. به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که مدیریت تغذیه‌ای در هر دو چین اثرات قابل‌ملاحظه‌ای بر صفات کمی و کیفی نعناع‌فلفلی داشت. در رابطه با صفات مورفولوژیکی کاربرد تلفیقی ۵۰ درصد کود شیمیایی+ قارچ مایکوریزا و ۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانو کود نسبت به سایر تیمارها برتری قابل‌ملاحظه‌ای داشتند. بیشترین میزان عملکرد ماده خشک با کاربرد کودهای شیمیایی مرسوم در چین دوم به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با کاربرد تلفیقی ۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانوکود و ۵۰ درصد کود شیمیایی+ قارچ مایکوریزا نداشت. همچنین بیشترین درصد اسانس با کاربرد تلفیقی ۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانو کود در چین اول به‌دست آمد که نسبت به کاربرد کودهای شیمیایی مرسوم ۷/۱ درصد بیشتر بود. علاوه بر این، کاربرد تلفیقی ۵۰ درصد کود شیمیایی+ ۵۰ درصد نانو کود و ۵۰ درصد کود شیمیایی+ قارچ مایکوریزا منجر به افزایش ۱۹۸ درصدی عملکرد اسانس نسبت به شاهد گردید. از لحاظ ترکیبات کیفی اسانس، بیشترین (۴۶/۳۱ درصد) و کمترین میزان منتول (۲۶/۷۳ درصد) به‌ترتیب با کاربرد نانو کود در چین دوم و کاربرد کودهای شیمیایی مرسوم در چین اول به‌دست آمد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت، کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا و نانو کود به همراه ۵۰ درصد کود شیمیایی علاوه بر کاهش مصرف این کودها منجر به افزایش کمیت و کیفیت اسانس تولیدی نعناع فلفلی خواهد شد.

References

1. Abdullahi, R., and Sheriff, H. 2013. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and chemical fertilizer on growth and shoot nutrients content of onion under field condition in Northern Sudan Savanna of Nigeria. Journal of Agriculture and Veterinary Science 3 (5): 85-90.
2. Adams, R. P. 2017. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured publishing corporation. (4): 1-804 : Allured Publishing Corporation Carol Stream, IL.
3. Amani Machiani, M., Javanmard, A., Morshedloo, M. R., and Maggi, F. 2018. Evaluation of yield, essential oil content and compositions of peppermint (*Mentha piperita* L.) intercropped with faba bean (*Vicia faba* L.). Journal of Cleaner Production 171: 529-537.
4. Amuamuha, L., Pirzad, A., and Hadi, H. 2012. Effect of varying concentrations and time of Nanoiron foliar application on the yield and essential oil of Pot marigold. International Research Journal of Applied and Basic Sciences 3 (10): 2085-2090.
5. Aslani, Z., Hassani, A., Rasooli, S. M., Sefidkon, F., and Barin, M. 2011. Effect of two fungi species of arbuscular mycorrhizal (*Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*) on growth, chlorophyll contents and P concentration in Basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 27 (3): 471-486. (in Persian with English abstract).
6. Azizi, A., Yan, F., and Honermeier, B. 2009. Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. Industrial Crops and Products 29 (2-3): 554-561.
7. Babaei, K., Seyed Sharifi, R., Pirzad, A., and Khalilzadeh, R. 2017. Effects of bio fertilizer and nano Zn-Fe oxide on physiological traits, antioxidant enzymes activity and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. Journal of Plant Interactions 12 (1): 381-389.
8. Bahadori, F., Ashorabadi, E. S., Mirza, M., Matinizade, M., and Abdosi, V. 2013. Improved growth, essential oil yield and quality in *Thymus daenensis* Celak on mycorrhizal and plant growth promoting rhizobacteria inoculation. International Journal of Agronomy and Plant Production 4: 3384-3391.
9. Baranauskienė, R., Venskutonis, P. R., Viškelis, P., and Dambrauskienė, E. 2003. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). Journal of Agricultural and Food Chemistry 51 (26): 7751-7758.
10. Baum, C., El-Tohamy, W., and Gruda, N. 2015. Increasing the productivity and product quality of vegetable crops using arbuscular mycorrhizal fungi: a review. Scientia Horticulturae 187: 131-141.
11. Cabello, M., Irrazabal, G., Bucsinszky, A. M., Saparrat, M., and Schalamuk, S. 2005. Effect of an arbuscular mycorrhizal fungus, Glomus mosseae, and a rock-phosphate-solubilizing fungus, Penicillium thomii, on *Mentha piperita* growth in a soilless medium. Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms 45 (3): 182-189.
12. Court, W. A., Roy, R. C., Pocs, R., More, A. F., and White, P. H. 1993. Optimum Nitrogen Fertilizer Rate for Peppermint (*Mentha piperita* L.) in Ontario, Canada. Journal of Essential Oil Research 5 (6): 663-666.

13. Elfeky, S. A., Mohammed, M. A., Khater, M. S., Osman, Y. A. and Elsherbini, E. 2013. Effect of magnetite Nano-Fertilizer on Growth and yield of *Ocimum basilicum* L. International Journal of Indigenous Medicinal Plants 46 (3): 1286-1293.
14. Francis, C. A., Bulter, F. C., and King, L. D. 2000**.** Crop growth and relative growth rates in (*Matricaria chamomilla* L.). Crop Science 88: 1207-1212.
15. Galván, G. A., Parádi, I., Burger, K., Baar, J., Kuyper, T. W., Scholten, O. E., and Kik, C. 2009. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in onion roots from organic and conventional farming systems in the Netherlands. Mycorrhiza 19 (5): 317-328.
16. Geneva, M. P., Stancheva, I. V., Boychinova, M. M., Mincheva, N. H., and Yonova, P. A. 2010. Effects of foliar fertilization and arbuscular mycorrhizal colonization on *Salvia officinalis* L. growth, antioxidant capacity, and essential oil composition. Journal of the Science of Food and Agriculture 90 (4): 696-702.
17. Giovannetti, M., and Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 84 (3): 489-500.
18. Gryndler, M., Hršelová, H., Sudová, R., Gryndlerová, H., Řezáčová, V., and Merhautová, V. 2005. Hyphal growth and mycorrhiza formation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum* BEG 23 is stimulated by humic substances. Mycorrhiza 15 (7): 483-488.
19. Gutiérrez-Mañero, F. J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouachi, J., R Tadeo, F., and Talon, M. 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. Physiologia Plantarum 111 (2): 206-211.
20. Hagh Parast Tanha, M. 1992**.** Nutrition and Metabolism Plants. Islamic Azad University Publishing, Rasht.
21. Hassiotis, C. N., Ntana, F., Lazari, D. M., Poulios, S., and Vlachonasios, K. E. 2014. Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period. Industrial Crops and Products 62: 359-366.
22. Hofmeyer, P. V., Seymour, R. S., and Kenefic, L. S. 2010**.** Production ecology of *Thuja occidentalis*. Canadian Journal of Forest Research 40 (6): 1155-1164.
23. Izadi, Z., Ahmadvand, G., Asna-Ashari, M., and Piri, K. 2010. The effect of nitrogen and plant density on some growth characteristics, yield and essential oil in peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian Journal of Field Crops Research 8 (5): 827-836. (in Persian with English abstract).
24. Kahiluoto, H., Ketoja, E., and Vestberg, M. 2009. Contribution of arbuscular mycorrhiza to soil quality in contrasting cropping systems. Agriculture, Ecosystems & Environment 134 (1-2): 36-45.
25. Kapoor, R., Anand, G., Gupta, P., and Mandal, S. 2017. Insight into the mechanisms of enhanced production of valuable terpenoids by arbuscular mycorrhiza. Phytochemistry Reviews 16 (4): 677-692.
26. Kapoor, R., Chaudhary, V., and Bhatnagar, A. 2007. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. Mycorrhiza 17 (7): 581-587.
27. Kapoor, R., Giri, B., and Mukerji, K. G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresource Technology 93 (3): 307-311.
28. Karagiannidis, N., Thomidis, T., Lazari, D., Panou-Filotheou, E., and Karagiannidou, C. 2011. Effect of three Greek arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of oregano and mint plants. Scientia Horticulturae 129 (2): 329-334.
29. Khan, M., Mobin, M., Abbas, Z., and Alamri, S. 2018. Fertilizers and their contaminants in soils, surface and groundwater. Encyclopedia Anthropocene 5: 225-240.
30. Khater, M. S. 2015. Magnetite-Nanoparticles Effects on Growth and essential oil of Peppermint. Current Science International 4 (2): 140-144.
31. Koske, R., and Gemma, J. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. Mycological Research 92 (4): 486-488.
32. Liu, R., and Lal, R. 2015. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. Science of the Total Environment 514: 131-139.
33. Mafakheri, S., Asghari, B., and Shaltooki, M. 2016. Effects of biological, chemical and nano-fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of *Lallemantia iberica* (MB) Fischer & Meyer. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 32 (4): 667-677.
34. Mandal, S., Upadhyay, S., Wajid, S., Ram, M., Jain, D. C., Singh, V. P., Abdin, M. K., and Kapoor, R. 2015. Arbuscular mycorrhiza increase artemisinin accumulation in *Artemisia annua* by higher expression of key biosynthesis genes via enhanced jasmonic acid levels. Mycorrhiza 25 (5): 345-357.
35. Marcum, D. B., and Hanson, B. R. 2006. Effect of irrigation and harvest timing on peppermint oil yield in California. Agricultural Water Management 82 (1): 118-128.
36. Masoumi Zavarian, A., Yousefi Rad, M., and Asghari, M. 2015. Effects of Mycorrhizal Fungi on Quantitative and Qualitative Characteristics of Anise Plant (*Pimpinella anisum*) under Salt Stress. Journal of Medicinal Plants 4 (56): 139-148.

37. McGonigle, T., Miller, M., Evans, D., Fairchild, G., and Swan, J. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist 115 (3): 495-501.
38. Mishra, P., Singh, A., Mishra, R. R., Ong, S., and Prasad, S. M. 2018. Application of Nanotechnology to Enhance the Nutrient Quality of Food Crops and Agricultural Production Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms (pp. 453-472): Elsevier.
39. Moghadam, E., Mahmoodi, S. M., Farrokhian, F. A., Ramazani, Z., and Eskandari, F. 2015. The effect of foliar application of iron chelate type on morphological traits and essential oil content of holy basil (*Ocimum sanctum*). Journal of Crops Improvement 17 (3): 595 -606.
40. Morshedloo, M. R., Craker, L. E., Salami, A., Nazeri, V., Sang, H., and Maggi, F. 2017. Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono-and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. Plant Physiology and Biochemistry 111: 119-128.
41. Morshedloo, M. R., Maggi, F., Neko, H. T., and Aghdam, M. S. 2018. Sumac (*Rhus coriaria* L.) fruit: Essential oil variability in Iranian populations. Industrial Crops and Products 111: 1-7.
42. Mura, S., Seddaiu, G., Bacchini, F., Roggero, P. P., and Greppi, G. F. 2013. Advances of nanotechnology in agro-environmental studies. Italian Journal of Agronomy 8 (3): 127-140.
43. Ormeño, E., and Fernandez, C. 2012. Effect of soil nutrient on production and diversity of volatile terpenoids from plants. Current Bioactive Compounds 8 (1): 71-79.
44. Pavela, R., Žabka, M., Vrchotová, N., and Tříska, J. 2018. Effect of foliar nutrition on the essential oil yield of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Industrial Crops and Products 112: 762-765.
45. Peter, K. 2006. Handbook of herbs and spices. Woodhead Publishing.
46. Phillips, J. M., and Hayman, D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55 (1): 158-161.
47. Poshtdar, A., Mashhadie, A., Moradi, F., Siadat, S., and Bakhshandeh, A. 2016. Effect of source and rate of nitrogen fertilizer on yield and water and nitrogen use efficiency of peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian Journal of Crop Sciences 18 (1): 14-31. (in Persian with English abstract).
48. Rahmani, N., Valadabadi, S. A., Daneshian, J., and Bigdeli, M. 2008. The effects of water deficit stress and nitrogen on oil yield of *Calendula officinalis* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 24 (1): 103-108.
49. Razavi, S., Jahan, M., Mahallti, M., and Ghalibaf, K. 2017. Radiation absorption and use efficiency of common mallow (*Malva sylvestris* L.) affected by different sources of organic, biological and chemical fertilizers and intercropping with fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). Iranian Journal of Field Crops Research 15 (1): 136-149.
50. Shajari Aghhavani, M., Rezvani Moghaddam, P., Ghorbani, R., and Nasiri Mahallati, M. 2016. Effects of single and combined application of organic, biological and chemical fertilizers on quantitative and qualitative yield of coriander (*Coriandrum sativum*). Journal of Horticultural Science 29 (4): 486-500. (in Persian with English abstract).
51. Smith, S., and Read, D. 2008. Mycorrhizal Symbiosis 3rd edn Academic Press: San Diego. CA, USA, 787.
52. Smitha, G., Basak, B., Thondaiman, V., and Saha, A. 2019. Nutrient management through organics, bio-fertilizers and crop residues improves growth, yield and quality of sacred basil (*Ocimum sanctum* Linn). Industrial Crops and Products 128: 599-606.
53. Solanki, P., Bhargava, A., Chhipa, H., Jain, N., and Panwar, J. 2015. Nano-fertilizers and their smart delivery system Nanotechnologies in food and agriculture (pp. 81-101): Springer.
54. Tarraf, W., Ruta, C., Tagarelli, A., De Cillis, F., and De Mastro, G. 2017. Influence of arbuscular mycorrhizae on plant growth, essential oil production and phosphorus uptake of *Salvia officinalis* L. Industrial Crops and Products 102: 144-153.
55. Telci, I., Kacar, O., Bayram, E., Arabacı, O., Demirtaş, İ., Yılmaz, G., Özcan, I., Sönmez, C., and Göksu, E. 2011. The effect of ecological conditions on yield and quality traits of selected peppermint (*Mentha piperita* L.) clones. Industrial Crops and Products 34 (1): 1193-1197.
56. Urcoviche, R. C., Gazim, Z. C., Dragunski, D. C., Barcellos, F. G., and Alberton, O. 2015. Plant growth and essential oil content of *Mentha crispa* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi under different levels of phosphorus. Industrial Crops and Products 67: 103-107.
57. Valentine, A., Osborne, B., and Mitchell, D. 2001. Interactions between phosphorus supply and total nutrient availability on mycorrhizal colonization, growth and photosynthesis of cucumber. Scientia Horticulturae 88 (3): 177-189.
58. Varma, A., Prasad, R., and Tuteja, N. 2018. Mycorrhiza-Nutrient Uptake, Biocontrol, Ecorestoration. Springer.
59. Weisany, W., Sohrabi, Y., Siosemardeh, A., and Ghassemi-Golezani, K. 2017. *Funneliformis mosseae* fungi changed essential oil composition in *Trigonella foenum graecum* L., *Coriandrum sativum* L. and *Nigella sativa* L. Journal of Essential Oil Research 29 (3): 276-287.

60. Willmann, M., Gerlach, N., Buer, B., Polatajko, A., Nagy, R., Koebke, E., Jansa, J., Flisch, R., and Bucher, M. 2013. Mycorrhizal phosphate uptake pathway in maize: vital for growth and cob development on nutrient poor agricultural and greenhouse soils. Frontiers in Plant Science 4: 1-6.
61. Yousefzadeh, S., Modarres, S. S. A. M., Sefidkon, F., and Ghiasy, O. M. 2016. Effect of biofertilizer, azocompost and nitrogen on oil yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica* L. Iranian Journal of Horticultural Sciences 46 (4): 604-611.
62. Zehtab-Salmasi, S., Heidari, F., and Alyari, H. 2008. Effects of microelements and plant density on biomass and essential oil production of peppermint (*Mentha piperita* L.). Plant Science Research 1 (1): 24-26.
63. Zeinali, H., Hosseini, H., and Shirzadi, M. 2014. Effects of nitrogen fertilizer and harvest time on agronomy, essential oil and menthol of *Mentha piperita* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 30 (3): 486-495.
64. Zheljazkov, V. D., Cerven, V., Cantrell, C. L., Ebelhar, W. M., and Horgan, T. 2009. Effect of nitrogen, location, and harvesting stage on peppermint productivity, oil content, and oil composition. American Society for Horticultural Science 44 (5): 1267-1270.
65. Zolfaghari, M., Nazeri, V., Sefidkon, F., and Rejali, F. 2013. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and essential oil content and composition of *Ocimum basilicum* L. Iranian Journal of Plant Physiology 3 (2): 643-650.

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 17, No. 2, Summer. 2019, p. 327-345

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۷، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸، ص. ۳۴۵-۳۲۷

Evaluation of Quantitative and Qualitative Traits of the First and Second Cuttings of Peppermint (*Mentha piperita* L.) under the Influence of the Integrated Application of Conventional, Nano Fertilizers and Mycorrhizal

A. Ostadi[1], A. Javanmard[2*], M. R. Morshedloo[3], S. Mola Ali Abasiyan[4]

Received: 28-08-2018
Accepted: 03-08-2019

Introduction

In order to protect biodiversity, especially medicinal herb, and crude herbal drugs from the wild origin, Biological Diversity Act (2002) and Rule (2004) were enforced which compelled the herbal industries and medicinal plant growers for conventional cultivation of medicinal herbs. However, intensive cultivation of these medicinal herbs and herbal drugs to meet the global demand has led to aggravated use of chemical fertilizers and pesticides and consequently questioning their safety and integrity. Moreover, total fertilizer nutrient ($N+P_2O_5+K_2O$) consumption was estimated at 170.7 and 175.7 million tons in 2010 and 2011, respectively which estimated consumption of N, P, and K fertilizers is expected to increase from current consumption levels by 172%, 175%, and 150%, respectively by 2050. Excessive using of chemical fertilizers caused serious environmental issues globally such as reduction of plant diversity, instability of economic yield, an increase of pest and disease damages, intensification of soil erosion. These increasing concerns regarding the negative impacts of these systems on the environment and human health suggest that more effort is needed to develop sustainable agricultural systems with higher productivity and improved efficiency. Application of nano-fertilizers and biofertilizers such as arbuscular mycorrhizal fungi (AM) is regarded as one of the promising approaches to increasing crop productivity. Nano-materials (NMs) are defined as materials that with at least one dimension less than 100 which can improve one or more nutrients absorption for plants and enhance their growth and yields. The AM fungi are a fundamental group of soil micro-organisms, symbiotically associated with nearly 80% of plant species.

Peppermint (*Mentha piperita* L.), which is a hybrid between *Mentha spicata* and Mentha Aquatica belonging to a family, Lamiaceae, is one of the most important essential oil-bearing plants. The objective of this experiment was an evaluation of the quantity and quality traits of peppermint under the integrated application of chemical and nano-fertilizers and arbuscular mycorrhizal fungi.

Materials and Methods

In order to investigate the effects of different fertilizers on the quantity and quality of peppermint at the first and second cuttings, a field experiment study was carried out as split-plot in time based on a randomized complete block design (RCBD) with seven treatments and three replications and two cutting times at the faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran, in 2017. The main factor was different fertilizer treatments included no fertilizer (control), chemical fertilizer (CF), arbuscular mycorrhiza fungi (AMF) (*Glomus mussels*), 50% CF+ AMF, Nano-fertilizers (NF), 50% NF+ 50% CF, NF+ AMF and the sub-factor was cutting time (first and second cutting). In AM fungi treatments, 80 g of the soil containing mycorrhizal fungi hyphae and the remains of the root and spores (1000 g spore.10^{-1} g soil) was added to soil in planting times. Also, Nitrogen Nano-fertilizer used with 2 ml/L concentration. Moreover, phosphorus, potassium, iron and zinc Nano-fertilizers applied with 1 g.L^{-1} concentration. Furthermore, manganese Nano-fertilizer used in 0.5 g/L concentration. Additionally, the foliar application of Nano-fertilizers was carried out in two-stage (One month after the cultivation and one month after first cutting).

Results and Discussion

The results demonstrated that the highest total dry matter yield (382.6 g.m^{-2}) was achieved under 100% CF followed by 50% CF+ AMF and 50% NF+ 50% CF treatments, respectively. On the other hand, the highest (6.1 g.m^{-2}) and lowest (2.9 g.m^{-2}) essential oil yield were obtained under 50% CF+ AMF and control, respectively. Chemical analysis of the essential oil demonstrated that in all treatments, menthol, menthone, 1, 8 cineole, neo-

1- Ph.D Student of Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran
2- Associate Prof., Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran
3- Assistant Prof., Dept. of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran
4- Assistant Prof., Dept. of Soil Science Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran
(*- Correspondig Author Email: a.javanmard@maragheh.ac.ir)

iso menthol, neo-menthol, Menthofuran, and *p*-Menth-1-en-9-ol were the main dominant components. The highest amount of menthol was obtained in nano-fertilizer treatment and at the second cutting. Furthermore, monoterpene hydrocarbons were the major fraction of the essential oil in both harvests.

Conclusions

Based on the results, integrative application of 50% CF+ AMF and 50% CF+ 50% NF had a higher significant impact on the morphological traits compared with other treatments. The highest dry matter yield was achieved in the second cutting with the application of CF that was not significantly impacted with 50% CF+ AMF and 50% CF+ 50% NF treatments. Also, the highest essential oil content was obtained the integrative application of 50% CF+ 50% NF that was 7.1% higher than CF in the first cutting. In addition, the essential oil yield productivity increased 198% with application of 50% CF+ AMF and 50% CF+ 50% NF compared with control. Based on the essential oil compounds, the highest (46.31%) and the lowest (26.73%) content of menthol was recorded in the second cutting fertilized with NF and first cutting fertilized with CF. Generally, based on the obtained results, integrative application of AMF and NF with 50% CF increased the quality and quantity productivity of peppermint compared with 100% CF.

Keywords: Cutting, Integrated fertilizers application, Menthol, Menthone, Sustainable agriculture